

EFFETTI DELL'INGESTIONE DI ERBA VERDE SULLA COMPOSIZIONE IN ACIDI GRASSI POLINSATURI DEL LATTE E DEL FORMAGGIO DI PECORA

EFFECTS OF GRASS INTAKE ABOUT COMPOSITION OF POLYUNSATURATED FAT ACIDS OF SHEEP MILK AND CHEESE

MASSIMO TOCCHINI ⁽¹⁾, BALDASSARE FRONTE ⁽¹⁾, SANTO CARACAPPA ⁽²⁾,
ANTONINO CORRAO ⁽²⁾, GIANLUCA FICHI ⁽³⁾, ANTONELLO MARRANTE ⁽⁴⁾,
ROSSELLA SCHINELLI ⁽²⁾

RIASSUNTO

Lo scopo della prova è stato lo studio dell'effetto prodotto dall'assunzione di foraggio verde (Trifoglio s.s.p.) sul contenuto in acidi grassi della serie omega 3, omega 6 e in acido linoleico coniugato sul latte e sul formaggio ovino.

La ricerca è stata condotta su 24 pecore di razza Sarda, pluripare, con ultimo parto singolo ed al secondo mese di lattazione. Dal punto di vista alimentare, ciò che ha differenziato i trattamenti è la somministrazione di erba verde, mediante pascolamento, nel Trattamento rispetto al Controllo. Nel complesso, comunque, le due razioni "teoriche" utilizzate nella prova sperimentale erano isoenergetiche, isoproteiche ed isolipidiche.

Contrariamente a quanto atteso l'assunzione di foraggio verde ha prodotto un effetto deprimente la concentrazione di omega 3 sia nel latte che nel formaggio. Nessun effetto rilevante è stato messo in evidenza sul contenuto di acido linoleico coniugato né sul contenuto in omega 6.

Parole chiave: omega 3, CLA, pascolo, pecore, latte, formaggio.

SUMMARY

The aim of this research is to verify the result of the grass intake about the composition in omega 3, omega 6 and conjugated linoleic fatty acids of sheep milk and cheese.

Twenty four Sarda ewes were fed by two different diets. The grass intake was the difference that the authors investigated. The grass intake lowered the omega 3 milk and cheese concentration. No important effect was found about the concentration of conjugated linoleic fatty acid and omega 6.

Key words: omega 3, CLA, grass, sheep, milk, cheese.

⁽¹⁾ Dipartimento di Produzioni Animali, Università di Pisa - Direttore Prof. D. Cianci.

⁽²⁾ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia - Direttore Dott. S. Caracappa.

⁽³⁾ Dottorando in Scienze delle Produzioni e Gestione del Sistema Animale d'Interesse Faunistico-Venatorio ed Ittico (XIV ciclo).

⁽⁴⁾ Collaboratore esterno.

INTRODUZIONE

L'acido linoleico coniugato (CLA) e i suoi isomeri sono ampiamente contenuti negli alimenti di origine animale provenienti dai ruminanti (Bertoni e Trevisi, 1999). Infatti essi sembra possano essere formati attraverso due vie: 1) dai batteri del rumine, durante l'idrogenazione dell'acido linoleico (Mele e coll., 2001); 2) per l'azione di un batterio anaerobio (*Butyrivibrio fibrisolvens*), normalmente presente nella flora intestinale, che per via enzimatica effettua l'isomerizzazione dell'acido linoleico ad acido linoleico a dieni coniugati (Antongiovanni e coll., 2001; Banni e coll., 1999).

Al CLA, da parte di molti studiosi, sono attribuite proprietà anti-cancerogene, anti-aterogene ed anti-diabetiche (Bertoni e Trevisi, 1999; Bani e coll., 1999). Inoltre, alcuni ricercatori affermano che il CLA possiede anche interessanti proprietà nutrizionali in quanto la sua presenza nella dieta, sia in animali giovani (periodo prenatale e allattamento), che in animali adulti, sembra indurre un aumento della massa magra (massa muscolare) a scapito di quella grassa (Banni e coll., 1999).

Pochi dati sono reperibili in letteratura sugli effetti prodotti dai diversi apporti alimentari dell'acido lineico (C18:1) in forma *trans* e degli isomeri del CLA sulla composizione acidica del grasso del latte (Antongiovanni e coll., 2001; Secchiari e coll., 2001).

Sembra possibile, però, aumentare la quantità del CLA nel latte incrementando la percentuale degli acidi grassi polinsaturi presenti nella normale alimentazione degli animali, infatti, la concentrazione di CLA nei grassi del latte è stagionale e dipende dal tipo di alimentazione degli animali. Quando i pascoli sono lussureggianti e ricchi in acidi grassi polinsaturi, la bioidrogenazione può attivarsi su un abbondante substrato e conseguentemente è favorita anche la produzione di CLA; infatti, nelle regioni con clima continentale la concentrazione del CLA oscilla tra lo 0,24% d'inverno e il 2,81% d'estate, mentre nelle regioni in cui l'inverno è mite e l'estate molto secca, le percentuali sono invertite (Banni e coll., 1999). L'alimentazione, comunque, non sembra essere l'unico fattore ad influenzare il contenuto in CLA nei tessuti muscolari o nelle produzioni zootecniche, ma la variabilità del CLA nel latte sembra essere legato anche a differenze di razza (Secchiari e coll., 2001).

Risulta comunque confermato da più studi che è il rapporto foraggi/concentrati il più potente fattore in grado di influenzare sia il C18:1 (LA) trans che il CLA nel latte (Secchiari e coll., 2001).

Per quanto attiene questo lavoro, oggetto della prova è stato lo studio dell'effetto prodotto dall'assunzione di foraggio verde sul contenuto in acidi grassi polinsaturi (PUFA) ed in particolare in C.L.A. del latte e del relativo formaggio. A tal fine, gli effetti delle due diete testate sono stati valutati sia in ordine alla quantità di latte prodotto, sia al suo contenuto in grasso, proteine e acidi grassi ($\omega 3$, $\omega 6$ e CLA).

MATERIALI E METODI

La ricerca è stata condotta su 24 pecore di razza Sarda, pluripare, con ultimo parto singolo ed al secondo mese di lattazione. Questi soggetti, scelti a random nell'ambito dei 500 effettivi del gregge e che rispondevano alle suddette caratteristiche, sono stati suddivisi in due gruppi di 12 ciascuno.

I due gruppi così formati, denominati Controllo e Trattamento (T), sono stati allevati in 2 box di m² 15 di cui solo uno ubicato all'interno di un capannone, mentre l'altro, destinato al T, esterno.

La sperimentazione ha avuto una durata complessiva di 70 giorni.

Dal punto di vista alimentare, ciò che ha differenziato il T rispetto al Controllo, è stata la somministrazione di erba verde mediante pascolamento. Le razioni "teoriche" utilizzate sono quelle riportate in Tabella I e II ed il mangime impiegato nella prova sperimentale era il medesimo in entrambi i gruppi.

La somministrazione degli alimenti è stata eseguita, due volte al giorno sia per quanto riguarda il fieno che per quanto riguarda il man-

Tab. I. Razioni individuali (kg/capo/giorno).

Alimenti	Controllo Kg t.q.	T Kg t.q.
Erbaio trifoglio	—	4,00
Fieno polifita	1,5	0,5
Mangime complementare	0,8	0,8

Tab. II. Caratteristiche nutritive delle razioni .

Parametri		Controllo		T	
		T.Q.	S.S.	T.Q.	S.S.
Umidità	%	10,64		59,71	
S.S.	%	89,36	100,00	40,29	100,00
Prot. grezze	%	14,39	16,10	6,57	16,30
Lipidi grezzi	%	3,13	3,50	1,30	3,23
Fibra grezza	%	19,49	21,81	9,87	24,51
NDF	%	42,37	47,42	17,90	44,42
Amido	%	9,45	10,57	4,10	10,17
UFL ⁽¹⁾	n°/kg	0,68	0,76	0,31	0,76

⁽¹⁾ UFL = stimata INRA (1988)

gime complementare, mentre i soggetti del T erano tenuti al pascolo per 6 ore al giorno. La superficie adibita al pascolo era di 3 ettari e situata in un terreno collinoso; gli animali pascolavano liberi su un erbaio dalla copertura compatta e omogenea, ottenuto dalla semina di *Trifolium Subterraneum* s.s. *Bracnicalicinus*, s.s. *Subterraneus* e *Trifolium Micheliano* cv. Giorgia.

Quotidianamente è stata effettuata la rilevazione della produzione di latte di ciascun soggetto. Ai giorni 14°, 28°, 42°, 56° e 70° di prova sperimentale e per ciascun gruppo, sono stati prelevati campioni di latte di massa relativo alle due mungiture giornaliere. Il latte relativo alla mungitura della sera, prima di essere unito a quello della mattina successiva è stato conservato in appositi contenitori ad una temperatura inferiore a 4°C. Ciascun campione di latte, una volta etichettato per la successiva identificazione, è stato conservato mediante congelamento.

In corrispondenza del prelievo dei campioni di latte effettuati al 14°, 42° e 70° giorno di sperimentazione, il latte di ciascun gruppo è stato sottoposto a caseificazione artigianale.

Il formaggio ottenuto, a sua volta, è stato sottoposto a stagionatura per un periodo di 60 giorni ad una temperatura di 15°C. In corrispondenza del 20°, 40° e del 60° giorno di stagionatura, sono stati prelevati dei campioni di formaggio mediante “carotaggio” della forma.

Sui campioni di latte è stato determinato il tenore proteico e lipi-

dico mediante Milkoscan; inoltre sul grasso del latte e del formaggio è stata determinata la composizione in acidi grassi a partire dal C14 mediante gascromatografia. Tutte le analisi sopra descritte sono state effettuate presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale "A. Mirri" - Settore di Chimica e Tecnologie Alimentari di Palermo.

I risultati delle determinazioni analitiche dei campioni di latte e di formaggio sono stati sottoposti ad Analisi della Varianza (ANOVA) secondo il modello statistico ad una variabile di seguito riportato:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij} \text{ (S.A.S, 1995)}$$

RISULTATI

Dal punto di vista strettamente quantitativo, la produzione di latte osservata è risultata essere diversa in maniera altamente significativa per i due trattamenti. In particolare, come si può evidenziare dall'esame della Tabella III, i soggetti del T (soggetti al pascolo) hanno fatto registrare una produzione media di latte pari a $57,83 \pm 1,10$ maggiore rispetto al Controllo per $p > 0,01$ e la cui produzione media per capo è stata di $44,02 \pm 2,96$.

Per contro, l'effetto prodotto dall'assunzione di erba verde sul tenore in grasso e proteine del latte, è stato sempre non significativo. In particolare, sempre dall'esame della Tabella III, si evidenzia che i gruppi hanno fatto registrare un tenore medio percentuale in grasso del latte rispettivamente del $6,38 \pm 0,27$ per il Controllo e $6,37 \pm 0,47$ per il T, mentre, per quanto riguarda la proteina, il tenore medio per-

Tab. III. Produzione media di latte (l/capo) e tenore in grasso (%) e proteine (%).

Gruppo	Produzione		Grasso		Proteine	
	Media	ds	Media	ds	Media	ds
Controllo	44,02 A	2,96	6,38	0,27	5,36	0,41
T	57,83 B	1,10	6,37	0,47	6,21	0,87

A, B: $p < 0,01$

centuale rilevato è stato del $5,36 \pm 0,41$ per il Controllo e $6,21 \pm 0,87$ per il T.

Per quanto riguarda la composizione acidica del latte, mentre si evidenzia come il Controllo abbia presentato nel corso dell'intero periodo sperimentale un tenore medio in $\omega 3$ totali di mg/100 ml di latte $61,65 \pm 6,40$ (Tabella IV), il tenore in $\omega 3$ totali del T è stato di mg/100 ml di latte $52,27 \pm 12,14$; tra i due trattamenti non si è registrata alcuna differenza statisticamente significativa.

Stessa situazione si registra per quanto concerne l'ALA, mentre i dati senza dubbio più interessanti sono quelli relativi al DHA (Tabella IV) per il quale la differenza rilevata tra il Controllo ed il T è significativa per $p < 0,05$. Infatti, il contenuto in DHA del latte prodotto dal Controllo, ha presentato un tenore medio pari a mg/100 ml $3,41 \pm 1,12$ contro mg/100 ml e $0,55 \pm 0,86$ per il T.

Per quanto riguarda il tenore in DPA, la differenza riscontrata tra il Controllo e il T è risultata essere significativa per $p < 0,01$. I valori medi osservati in questo caso, sono stati di mg/100 ml $4,62 \pm 0,61$ per il Controllo e $0,42 \pm 0,65$ per il T (Tabella IV).

Quanto osservato nel caso del DHA e del DPA, non si è invece riscontrato per l'EPA ed i valori medi rilevati nel latte per i due gruppi sono stati di mg/100 ml $13,70 \pm 1,68$ per il Controllo e di mg/100 ml $14,50 \pm 4,81$ per il T (Tabella IV). Nessuna differenza statisticamente rilevante si è registrata tra questi.

In merito agli $\omega 6$ ed in particolare al loro precursore LA ma anche all'AA, in nessun caso sono state rilevate differenze statisticamente significative sia per quanto riguarda questi acidi sia per quanto riguarda il CLA. Quest'ultimo, infatti, ha presentato un tenore nel latte prodotto dai due gruppi molto simile ed in particolare nel Controllo è

Tab. IV. Tenore in $\omega 3$ del latte (mg/100 ml).

Gruppo	Tot. omega 3		ALA		DHA		DPA		EPA	
	Media	ds	Media	ds	Media	ds	Media	ds	Media	ds
Controllo	61,65	6,40	39,92	5,08	3,41 b	1,12	4,62 B	0,61	13,70	1,68
T	52,27	12,14	36,80	9,27	0,55 a	0,86	0,42 A	0,65	14,50	4,81

A, B: $p < 0,01$; a, b: $p < 0,05$

Tab. V. Tenore in $\omega 6$ del latte (mg/100 ml).

Gruppo	LA		AA		CLA	
	Media	ds	Media	ds	Media	ds
Controllo	69,72	11,87	19,67	3,74	17,38	2,97
T	70,39	28,79	19,75	3,88	16,32	1,75

stato di mg/100 ml $17,38 \pm 2,97$ e nel T di mg/100 ml $16,32 \pm 1,75$ (Tabella V).

Come a questo punto ci si poteva attendere, fatte salve eventuali modifiche dovute alla trasformazione casearia, anche nel formaggio prodotto con il latte relativo al 14°, 42° e 70° giorno di prova sperimentale, i trattamenti hanno fatto registrare differenze statisticamente significative (Tabella VI).

Relativamente al totale $\omega 3$ ed ai tre campioni per trattamento prelevati da ciascun formaggio prodotto con la prima caseificazione, si è registrata rispettivamente tra il Controllo e il T una differenza statisticamente significativa ($p < 0,01$). Queste differenze, sebbene non significative nella seconda caseificazione, si rilevano anche nelle successive trasformazioni casearie ed infatti nell'ultima di queste, sebbene solo per $p < 0,05$, il suo valore medio risulta essere in linea con quanto osservato in precedenza (Tabelle VII, VIII e IX). Per contro, invece, il tenore in ALA rilevato nei formaggi prodotti ha evidenziato differenze statisticamente significative solo in occasione della prima caseificazione, nella quale il Controllo, con mg/100 g $181,22 \pm 20,50$ contro mg/100 g $144,74 \pm 12,65$ del T, è stato diverso per $p < 0,05$ (Tabella VII). Differenze più nette si riscontrano nel caso del DHA

Tab. VI. Tenore in grasso del formaggio prodotto nelle diverse caseificazioni (%).

Gruppo	1ª caseificazione		2ª caseificazione		3ª caseificazione	
	Media	ds	Media	ds	Media	ds
Controllo	27,97	1,29	29,10	1,75	28,83	2,14
T	29,50	1,82	31,13	0,31	30,73	0,58

Tab. VII. Tenori in $\omega 3$ del formaggio prodotto alla 1^a caseificazione (mg/100 g).

Gruppo	Tot. omega 3		ALA		DHA		DPA		EPA	
	Media	ds	Media	ds	Media	ds	Media	ds	Media	ds
Controllo	263,34 B	31,47	181,22 b	20,50	9,29 B	3,14	14,96 B	4,66	57,87 b	7,47
T	189,69 A	14,54	144,74 a	12,65	1,02 A	1,77	0,00 A	0,00	43,93 a	6,49

A, B: $p < 0,01$; a, b: $p < 0,05$ **Tab. VIII.** Tenori in $\omega 3$ del formaggio prodotto alla 2^a caseificazione (mg/100 g).

Gruppo	Tot. omega 3		ALA		DHA		DPA		EPA	
	Media	ds	Media	ds	Media	ds	Media	ds	Media	ds
Controllo	265,84	17,47	160,12	13,45	22,43 B	5,31	22,30	6,85	60,98	4,86
T	217,87	12,30	145,25	5,04	4,17 A	4,76	9,32	9,36	59,14	2,76

A, B: $p < 0,01$ **Tab. IX.** Tenore in $\omega 3$ del formaggio prodotto alla 3^a caseificazione (mg/100 g).

Gruppo	Tot. omega 3		ALA		DHA		DPA		EPA	
	Media	ds	Media	ds	Media	ds	Media	ds	Media	ds
Controllo	355,67 b	35,31	218,62	24,60	28,88 B	4,24	29,53 B	5,60	78,64	3,70
T	259,17 a	32,17	178,32	20,22	1,01 A	1,76	3,04 A	5,27	76,80	10,71

A, B: $p < 0,01$; a, b: $p < 0,05$

(Tabelle VII, VIII e IX) per il quale, già in riferimento al formaggio prodotto in occasione della prima caseificazione, per il Controllo (mg/100 g $9,29 \pm 3,14$) ed il T (mg/100 g $1,02 \pm 1,77$) si registra una differenza altamente significativa ($p < 0,01$). I risultati ottenuti per il DHA sono quindi in linea con quanto rilevato nel latte da cui il formaggio proveniva ed in cui la differenza tra trattamenti era per $p <$

0,05 ed in favore del C rispetto al T. Degno di nota, comunque, è il fatto che conseguentemente alla caseificazione del latte, per il DHA le differenze tra i trattamenti sono state statisticamente significative per $p < 0,01$ in tutte le caseificazioni. Il tenore raggiunto a fine prova sperimentale nei formaggi è stato di mg/100 g $28,88 \pm 4,24$ e mg/100 g $1,01 \pm 1,76$ rispettivamente nei gruppi Controllo e T.

Il tenore in DPA del formaggio prodotto è stato sempre superiore nel Controllo rispetto al T e le differenze sono risultate significative per $p < 0,01$ nella prima e nella terza caseificazione ma non nella seconda. Risultati diversi si rilevano per l'EPA il quale ha evidenziato un andamento crescente in funzione delle successive caseificazioni in entrambi i gruppi e facendo rilevare solo in occasione della prima caseificazione una differenza significativa per $p < 0,05$, tra l'altro non riscontrata nel latte.

La risposta degli $\omega 6$ al trattamento caseario ci sembra non fornire dati molto interessanti fatta eccezione per alcuni casi (Tabelle X, XI e XII); uno di questi è quello dell'AA del formaggio ottenuto con la seconda caseificazione il cui tenore è stato maggiore ($p < 0,01$) nel

Tab. X. Tenori in $\omega 6$ del formaggio prodotto alla 1^a caseificazione (mg/100 g).

Gruppo	LA		AA		CLA	
	Media	ds	Media	ds	Media	ds
Controllo	220,53	27,71	86,72	7,49	64,16	3,03
T	190,94	48,01	101,73	19,71	65,11	9,40

Tab. XI. Tenori in $\omega 6$ del formaggio prodotto alla 2^a caseificazione (mg/100 g).

Gruppo	LA		AA		CLA	
	Media	ds	Media	ds	Media	ds
Controllo	306,66	55,49	119,99 B	0,23	70,23	16,54
T	265,54	47,72	88,18 A	9,16	78,85	3,07

A, B: $p < 0,01$

Tab. XII. Tenori in $\omega 6$ del formaggio prodotto alla 3^a caseificazione (mg/100 g).

Gruppo	LA		AA		CLA	
	Media	ds	Media	ds	Media	ds
Controllo	394,78	44,21	114,68	17,32	98,87	18,43
T	336,01	32,38	74,81	18,52	115,6	47,84

Controllo rispetto al T (mg/100 g di formaggio $119,99 \pm 0,23$ del Controllo contro $91,43 \pm 7,82$ del T).

Per quanto concerne il CLA (Tabelle X, XI e XII), invece, il suo tenore ha presentato un aumento della concentrazione in tutti e due i gruppi ed in particolare è passato da mg/100 mg di formaggio $64,16 \pm 3,03$ nel Controllo e mg/100 mg $65,11 \pm 9,40$ nel T alla prima caseificazione a mg/100 mg $98,87 \pm 18,43$ nel controllo e mg/100 mg $115,64 \pm 7,84$ nel T alla terza caseificazione. Nonostante ciò, ci sembra di fondamentale importanza evidenziare l'assenza di differenze statisticamente significative tra i due trattamenti.

DISCUSSIONE

La maggior produzione di latte registrata nel gruppo al pascolo confermerebbe che la disponibilità di erba verde ancora una volta si presenta come un fattore determinante, sebbene il meccanismo di azione potrebbe essere mediato da una maggiore ingestione di sostanza secca (Pulina & Nudda, 2001). Inoltre pur non potendo rilevare alcuna differenza statisticamente significativa tra i trattamenti in ordine al tenore in grasso e proteine del latte, il T ha comunque fatto rilevare un tenore più elevato in proteine rispetto al Controllo e, a nostro avviso, anche questa evenienza potrebbe essere spiegata con un maggior apporto energetico conseguente ad una maggiore ingestione di sostanza secca.

Dall'esame di quanto osservato sul latte, si rileva anche un certo effetto depressivo esercitato dall'assunzione di erba verde nei confronti del tenore in DHA, effetto depressivo che, seppur confermato in maniera forte anche per il DPA (Tabella IV), non si rileva nei confronti dell'EPA.

L'eventuale effetto depressivo esercitato dalla somministrazione di erba verde già osservato in modo particolare per il DHA e il DPA, sul tenore in $\omega 6$ non è mai stato osservato.

In particolare, ciò che ci è sembrato “sorprendente” è stato il rilevare che, rispetto al Controllo, il T ha presentato un tenore in CLA inferiore, anche se non in maniera significativa. Questo dato non è in linea con quanto riportato in bibliografia da altri autori (Cabiddu e coll., 2001; Secchiari e coll., 2001), i quali hanno osservato come la somministrazione di foraggi verdi a soggetti in lattazione esercita un'azione “positiva” nei confronti del tenore in CLA del latte. Questa evidenza, sembra indicare la necessità di effettuare ulteriori studi in funzione delle diverse specie botaniche foraggere o dello stadio vegetativo al momento del loro consumo.

Anche per quanto riguarda il formaggio, nelle successive caseificazioni si è registrato un costante aumento in PUFA, ma in entrambi i trattamenti e con differenze statisticamente non significative.

BIBLIOGRAFIA

- ANTONGIOVANNI M., BUCCIONI A., MELE M. (2001). Effects of ω -3 and CLA on nutritional traits of foods of animal origin. *Progress in Nutrition* 3,1: 46-51.
- BANNI S., ANGIONI S., CARTA G., CASU V., MURRU M.E., MELIS M.P., DESSÌ M.A., VARGIOLU S., CORONGIU F.P., (1999). Modificazioni nel metabolismo lipidico indotte dall'apporto alimentare dell'acido linoleico a dieni coniugati (CLA) in relazione alla sua attività anti-cancerogena. *Progress in Nutrition* 1, 3-4: 38-48.
- BERTONI G., TREVISI E. (1999). Acidi grassi polinsaturi ω -3 e nutrizione animale. *Progress in Nutrition* 1, 3-4: 19-29.
- CABIDDU A., DECANDIA M., MOLLE G., PIREDDA G., PIRISI A., DELOGU A., ADDIS M. (2001). Effect of diet on conjugated linoleic acid (CLA) content of milk and sheep cheese. *Recent Progress in Animal Production Science. Proceeding of the ASPA XIV Congress, Firenze, June 12-15, 2001*: 111-113.
- MELE M., SERRA A., SECCHIARI P., FERRUZZI G., PISTOIA A., RUSSO C. (2001). Effect of slaughtering age on CLA isomers in meat of *Mucca Pisana* calves. *Recent Progress in Animal Production Science. Proceeding of the ASPA XIV Congress, Firenze, June 12-15, 2001*: 108-110.
- PULINA G., NUDDA A. (2001). La produzione di latte in G. Pulina *L'alimentazione degli ovini da latte, Avenue media, Bologna*, 9-32
- S.A.S. (1995). *JMP*. Cary, NC: S.A.S. Institute Inc., ISBN: 1555446795.
- SECCHIARI P., ANTONGIOVANNI M., MELE M., SERRA A., BUCCIONI A., FERRUZZI G., PAOLETTI F. (2001). Effect of fat source on C18:1 trans fatty acid and CLA milk content in Italian Fresian dairy cows. *Recent Progress in Animal Production Science. Proceeding of the ASPA XIV Congress, Firenze, June 12-15, 2001*: 105-107.

